

<シンポジウム 27-3>オートファジーと神経変性をめぐって：病態から治療へ

QBP1 を応用した異常伸長ポリグルタミン蛋白質の特異的分解

永井 義隆¹⁾ 貫名 信行²⁾

(臨床神経 2011;51:1108-1110)

Key words : ポリグルタミン病, ミスフォールディング, 蛋白質分解, オートファジー, QBP1

1. はじめに

近年, アルツハイマー病, パーキンソン病, 筋萎縮性側索硬化症, ポリグルタミン (PolyQ) 病などの多くの神経変性疾患において, それぞれことなる蛋白質がいずれもミスフォールディング(構造異常)・凝集を生じて, 神経細胞内外に封入体として蓄積し, 最終的に神経変性をひきおこすという共通の発症分子メカニズムが示唆されるようになった. このうち PolyQ 病は, 様々な原因遺伝子内のグルタミンをコードする CAG リピートの異常伸長 (>35~40) という共通の遺伝子変異により発症するハンチントン病, 脊髄小脳失調症 1, 2, 3, 6, 7, 17 型, 歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症, 球脊髄性筋萎縮症など 9 疾患の総称で, 異常伸長 PolyQ 鎖を持つ変異蛋白質のミスフォールディング・凝集により神経変性をひきおこすと考えられている¹⁾²⁾.

このようなミスフォールド蛋白質の凝集・蓄積は, その合成と分解のバランスに規定されると考えられるが, 最近遺伝子改変マウスをもちいて, 脳神経系における蛋白質分解システムの破綻によっても神経変性がひきおこされることが実験的に示された. 以上のことから, ミスフォールド蛋白質を除去する蛋白質分解システムは, 1)機能破綻による発症への寄与, 2)機能促進による治療戦略という 2つの視点から, 神経変性疾患研究において注目されている. 蛋白質分解システムには主にユビキチン・プロテアソーム系とオートファジー・リソソーム系の 2つの経路があるが, 本稿では, 最近明らかになった選択的オートファジーに焦点を当て, 蛋白質分解システムの PolyQ 病病態への関与, そして私たちの異常蛋白質選択的な分解促進による治療戦略について概説する.

2. ポリグルタミン病におけるユビキチン・プロテアソーム系蛋白質分解

PolyQ 病患者やモデルマウスの脳内に蓄積している PolyQ 蛋白質封入体が高頻度にユビキチン化され, プロテアソーム関連蛋白質が共に蓄積していることなどから, ユビキチン・プロテアソーム系分解システムの病態への関与が示唆されて

きた³⁾. Kopito らは, 2001 年に培養細胞での異常伸長 PolyQ 蛋白質の発現によりプロテアソーム分解活性が障害されることを示したが⁴⁾, PolyQ 病マウスモデルではプロテアソーム活性は低下しないことが明らかにされた⁵⁾. また, Goldberg らは哺乳類プロテアソームの PolyQ 鎖分解活性が低いことを示し, PolyQ 鎖を分解するペプチダーゼの重要性を指摘した⁶⁾. 一方, 様々なユビキチンリガーゼなどが PolyQ 蛋白質のユビキチン化・分解を促進し, 治療効果を発揮することが培養細胞や動物モデルをもちいた実験系にて示されている. しかしながら, ユビキチン・プロテアソーム系分解では基質蛋白質のアンフォールディング(解きほぐし)が必要なため, すでに凝集した蛋白質の分解には分子シャペロンなどによる介助を要すると考えられる.

3. ポリグルタミン病におけるオートファジー・リソソーム系蛋白質分解

一方, PolyQ 蛋白質のような凝集・蓄積しやすい異常蛋白質が産生される病態においては, 基質蛋白質のリフォールディングを必要とせず, オートファゴソームにより蛋白質凝集体などの大きな複合体を取りかこんで, リソソームと融合して分解するオートファジー・リソソーム系分解の方がより重要な役割を担う可能性が考えられる⁷⁾.

PolyQ 病患者脳や培養細胞モデルにおいて, オートファゴソーム様の小胞が蓄積しているが, これがオートファジー・リソソーム系分解の活性化あるいは機能的な破綻を反映しているのかは一定の見解がえられていない. しかし, オートファジー関連遺伝子の欠損により病態が増悪することが, 培養細胞や動物モデルにて報告されており, 私たちも同様の結果をえている. 一方, Rubinsztein らは, ラパマイシンなどのオートファジー活性化剤が様々な PolyQ 病モデル動物に対して治療効果を発揮することを明らかにし, オートファジー活性化による PolyQ 病治療の可能性を提唱している⁸⁾.

¹⁾ 国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部 [〒187-8502 東京都小平市小川東町 4-1-1]

²⁾ 理化学研究所構造神経病理研究チーム

(受付日: 2011 年 5 月 20 日)

4. ポリグルタミン病に対する選択的異常蛋白質分解による治療法開発

上述のように、PolyQ 病をはじめとする神経変性疾患の根本的治療、とくに発症後からの治療を考えたばあい、ミスフォールド蛋白質を分解除去することは有効な戦略であると考えられるが、蛋白質分解システム全体の促進では生体維持に必要な蛋白質の分解による重篤な副作用が予想されるため、変異蛋白質のみを選択的に分解促進することが不可欠である。

そこで私たちは、異常伸長 PolyQ 鎖を特異的に認識するペプチド QBP1⁹⁾ を応用して、異常伸長 PolyQ 蛋白質の選択的な分解促進による治療法開発を考えた。選択的オートファジー分解の 1 つであるシャペロン介在性オートファジー分解 (CMA) では、分子シャペロン Hsc70 が基質蛋白質内の結合配列を認識し、これらをリソソームへと運んで分解する。この Hsc70 結合配列に異常伸長 PolyQ 鎖を認識する QBP1 配列を融合したキメラ蛋白質 (Hsc70BM-QBP1) をデザインし、培養細胞モデルに発現させたところ、実際に異常伸長 PolyQ 蛋白質が選択的に分解促進されることを確認した。続いて Hsc70BM-QBP1 を発現するウイルスベクターを作製し、PolyQ 病モデルマウスに対する遺伝子治療をおこなったところ、運動障害、寿命短縮などの著明な改善をみとめ、その有効性を明らかにした¹⁰⁾。

一方、最近明らかにされた p62 を介する選択的オートファジーによる異常伸長 PolyQ 蛋白質の選択的分解促進も検討している。p62 はユビキチン化された基質蛋白質と結合し、これらを選択的にオートファゴソーム内へと運んで分解する。この p62 のユビキチン結合配列を QBP1 と置換したキメラ蛋白質 (p62-QBP1) をデザインし、培養細胞モデルに発現させたところ、やはり異常伸長 PolyQ 蛋白質に選択的な分解促進効果をもとめている (未発表)。動物モデルに対する治療効果については、現在検討中である。

5. おわりに

ユビキチン・プロテアソーム系やオートファジー・リソソーム系などの蛋白質分解経路間には複雑なクロストークが存在し、お互いに相補的に働くばあいがあるため、様々な分解経路の統合的な促進により相乗的な治療効果が期待されると考えられる。さらに異常蛋白質の選択的分解による治療戦略は、PolyQ 病だけでなく蛋白質ミスフォールディング・凝集

がかかわる多くの神経変性疾患に広く応用可能であると考えられ、近い将来にこれらの難治性疾患に広く共通の治療薬が開発されることが期待される。

文 献

- 1) Nagai Y, Popiel HA. Conformational changes and aggregation of expanded polyglutamine proteins as therapeutic targets of the polyglutamine diseases: exposed β -sheet hypothesis. *Curr Pharm Des* 2008;14:3267-3279.
- 2) Bauer PO, Nukina N. The pathogenic mechanisms of polyglutamine diseases and current therapeutic strategies. *J Neurochem* 2009;110:1737-1765.
- 3) Li X, Li H, Li XJ. Intracellular degradation of misfolded proteins in polyglutamine neurodegenerative diseases. *Brain Res Rev* 2008;59:245-252.
- 4) Bence NF, Sampat RM, Kopito RR. Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science* 2001;292:1552-1555.
- 5) Maynard CJ, Bottcher C, Ortega Z, et al. Accumulation of ubiquitin conjugates in a polyglutamine disease model occurs without global ubiquitin/proteasome system impairment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:13986-13991.
- 6) Venkatraman P, Wetzel R, Tanaka M, et al. Eukaryotic proteasomes cannot digest polyglutamine sequences and release them during degradation of polyglutamine-containing proteins. *Mol Cell* 2004;14:95-104.
- 7) Naiki H, Nagai Y. Molecular pathogenesis of protein misfolding diseases: pathological molecular environments versus quality control systems against misfolded proteins. *J Biochem* 2009;146:751-756.
- 8) Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, et al. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet* 2004;36:585-595.
- 9) Nagai Y, Tucker T, Ren H, et al. Inhibition of polyglutamine protein aggregation and cell death by novel peptides identified by phage display screening. *J Biol Chem* 2000;275:10437-10442.
- 10) Bauer PO, Goswami A, Wong HK, et al. Harnessing chaperone-mediated autophagy for the selective degradation of mutant huntingtin protein. *Nat Biotechnol* 2010;28:256-263.

Abstract**Selective degradation of expanded polyglutamine proteins by their specific recognition with QBP1**Yoshitaka Nagai, M.D., Ph.D.¹⁾ and Nobuyuki Nukina, M.D., Ph.D.²⁾¹⁾Department of Degenerative Neurological Diseases,
National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry²⁾Laboratory for Structural Neuropathology, RIKEN Brain Science Institute

Protein misfolding and aggregation have been recognized as a common molecular pathogenesis of various neurodegenerative diseases including Alzheimer's, Parkinson's, and the polyglutamine (polyQ) diseases. The polyQ diseases, including Huntington's disease and various spinocerebellar ataxias, are caused by abnormal expansions of the polyQ stretch (>35-40) within disease-causative proteins. Recently, defects in protein degradation in the brain have been shown to cause neurodegeneration in genetically-engineered mice, highlighting two important roles of protein degradation systems in neurodegenerative diseases; 1) their dysfunction in the pathogenesis and 2) their activation as a therapy. However, it is indispensable to eliminate only the pathogenic proteins to avoid deleterious side effects. Aiming to selectively degrade the expanded polyQ proteins, we employed QBP1, a peptide which specifically binds to the expanded polyQ stretch. We designed a chimeric protein with the Hsc70 binding motif, a signal sequence for chaperone-mediated autophagy, fused to QBP1 (Hsc70BM-QBP1), and found that Hsc70BM-QBP1 accelerates the selective degradation of expanded polyQ proteins in cell culture. Gene therapy using a viral vector expressing Hsc70BM-QBP1 effectively ameliorates the motor dysfunction and premature death in polyQ disease model mice. We propose that our therapeutic strategy to selectively degrade the pathogenic proteins can also be applied to other neurodegenerative diseases.

(Clin Neurol 2011;51:1108-1110)

Key words: polyglutamine diseases, misfolding, protein degradation, autophagy, QBP1
